



# PROCESOS TECNOLÓGICOS SOBRE EL AZAFRÁN

María Soledad Palmero Augusto



## INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

El azafrán es una especia obtenida mediante el secado de los estigmas de la flor de *Crocus sativus* L. Es muy valorada en el ámbito culinario por sus propiedades colorantes, saborizantes y aromáticas. Dentro de su composición cabe destacar tres componentes bioactivos mayoritarios:

- **Safranal:** Aldehído terpénico cíclico (2,6,6-trimetil-1,3-ciclohexadien-1-carboxaldehído - Fig. 1). Representa el 70% de los compuestos volátiles del azafrán y es el principal responsable del aroma.
- **Crocinas:** Carotenoides inusuales por su solubilidad en agua. Ésteres mono y diglicosilados de la crocetina (Fig. 2). Son los principales responsables del color rojizo del azafrán. El isómero *trans*-crocina-4 es el mayoritario.
- **Picrocrocina:** Aldehído monoterpénico de la crocina (Fig. 3). Es el compuesto responsable del sabor amargo del azafrán.

La formación de estos compuestos se da como muestra la Figura 4.

La determinación de la calidad del azafrán se hace utilizando principalmente criterios de tipo organoléptico, físico-químico y botánico, junto con la higiene microbiológica. Para eliminar la microbiota del azafrán en la actualidad el proceso más empleado es la higienización por irradiación pero este método afecta a la calidad y, por ello, es necesario buscar alternativas tecnológicas. Una de las más eficaces es el tratamiento por calor para alcanzar temperaturas de esterilización.

## OBJETIVOS

Debido al problema que existe con los métodos de irradiación, el principal objetivo de este trabajo de investigación fue determinar las condiciones óptimas de esterilización que consiguiesen eliminar la microbiota del azafrán sin afectar de forma significativa a la concentración de las principales moléculas bioactivas (picrocrocina, safranal y crocinas).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras.

Dos lotes de estigmas de azafrán deshidratados (P43 y P45), suministrados por Pharmactive Biotech Products SL., se sometieron a ensayos de tratamiento térmico a distintos tiempos. Concretamente se hicieron 5 tratamientos diferentes.

### Análisis microbiológico.

Enterobacterias → Normativa ISO 7402 E. Coli → Normativa ISO 7251

Aerobios totales → AFNOR 1999 Mohos y levaduras → AFNOR 1995

### Análisis colorimétrico.

Siguiendo el método establecido en la normativa ISO 3632.

La concentración de picrocrocina, safranal y crocinas se llevó a cabo a 257, 330 y 440 nm respectivamente (Figura 5.).

### Análisis cromatográfico.

Mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), siguiendo el método propuesto por Caballero-Ortega et al., (2007).

Los compuestos bioactivos se cuantificaron con rectas de calibrado externas de p-nitroanilina (250 nm), safranal (330 nm) y trans-crocina-4 (440 nm).

### Análisis estadístico.

Mediante el análisis de la varianza (ANOVA) con la ayuda del programa estadístico SPSS 17.0 para Windows. Se consideraron diferencias significativas para el caso  $p < 0,05$ .

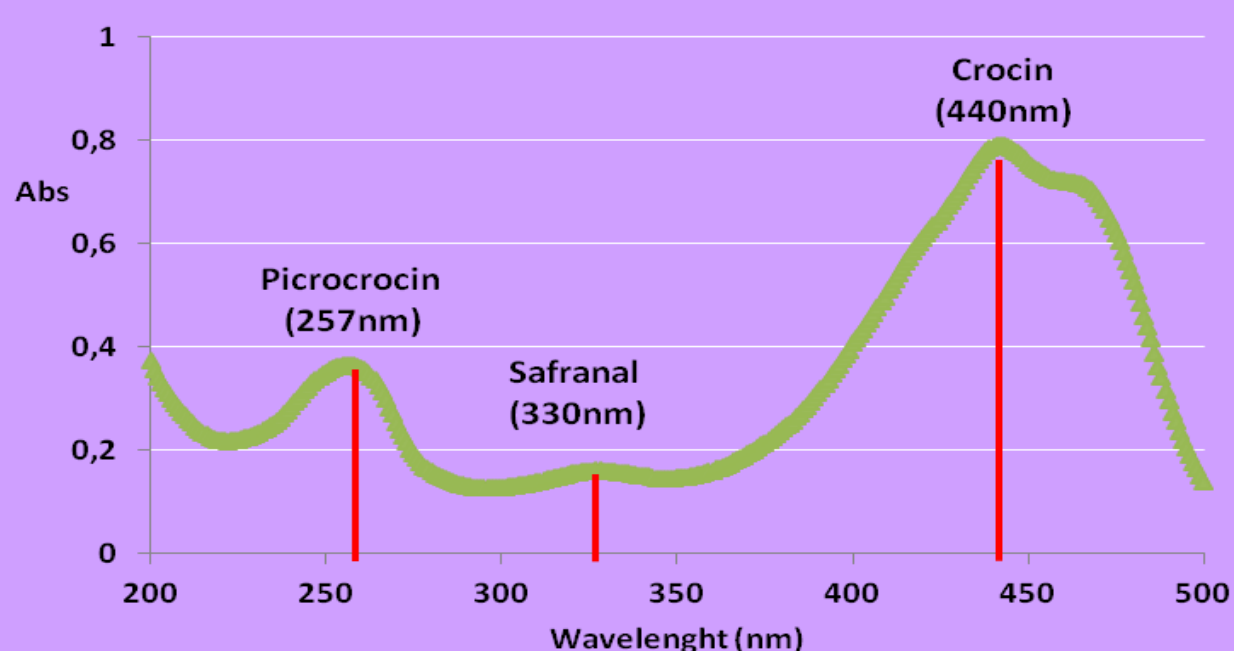


Fig 5. Espectro UV-Vis del análisis ISO 3632.

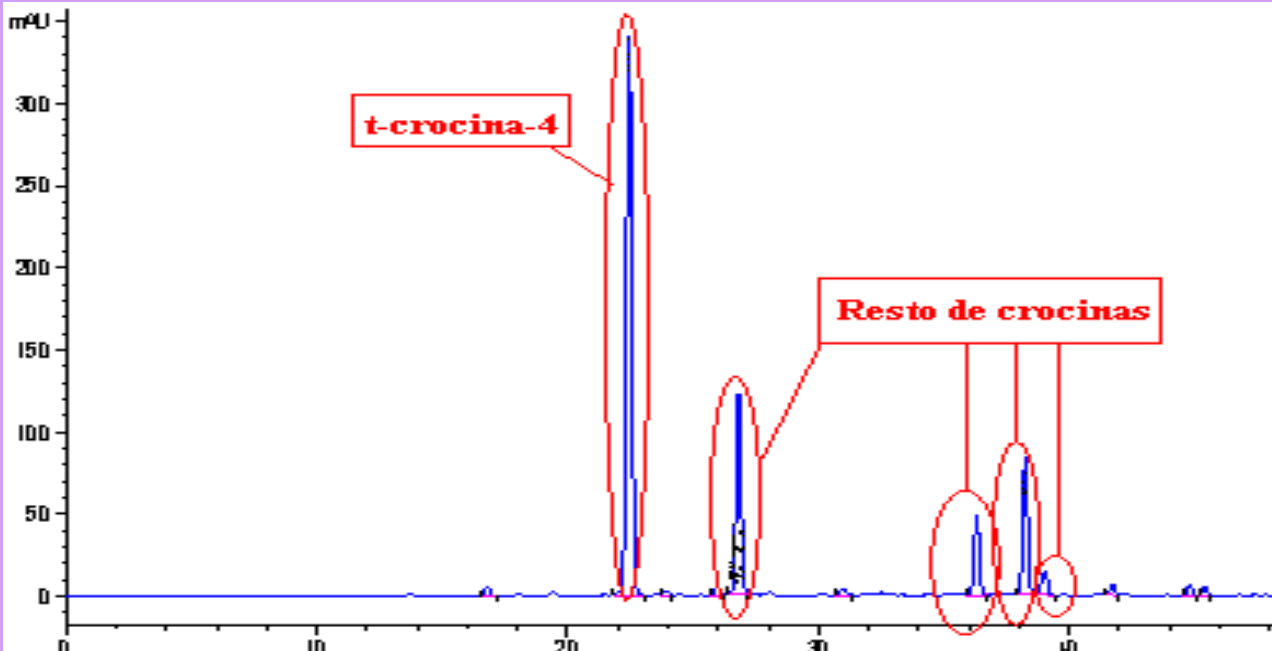


Fig 6. Cromatograma obtenido para la determinación de crocinas tras el análisis por HPLC.

Durante la esterilización a temperaturas elevadas puede producirse una pérdida de crocinas por degradación térmica no enzimática. Esta pérdida varía en función del tiempo que dure el tratamiento.

Observando los resultados expuestos en la Tabla 3, tras la cuantificación de los compuestos bioactivos mediante el método colorimétrico ISO 3632 vemos que no hubo diferencias significativas para picrocrocinas.

En el caso del safranal se produjo en el lote P43 un incremento significativo con los tratamientos B, C y E.

Las crocinas disminuyeron significativamente para ambos lotes con los tratamientos C y E. Se explica que la pérdida de crocinas sea mayor con los tratamiento C y E porque en estos fue donde las condiciones de tiempo y temperatura fueron más extremas.

P43	Control	Tratamientos				
		A	B	C	D	E
Picrocrocina(%)	23,0±0,1 <sup>a</sup>	23,8±2,3 <sup>a</sup>	23,5±0,6 <sup>a</sup>	22,7±0,3 <sup>a</sup>	22,8±2,5 <sup>a</sup>	22,0±0,7 <sup>a</sup>
Safranal(%)	8,3±0,0 <sup>a</sup>	9,4±1,3 <sup>a</sup>	10,0±0,1 <sup>b</sup>	10,2±0,1 <sup>b</sup>	8,9±0,9 <sup>a</sup>	10,0±0,3 <sup>b</sup>
Crocinas(%)	10,9±0,9 <sup>b</sup>	10,1±0,8 <sup>b</sup>	10,4±0,1 <sup>b</sup>	8,7±0,1 <sup>a</sup>	10,1±0,4 <sup>b</sup>	8,0±0,4 <sup>a</sup>
P45	Control	Tratamientos				
		A	B	C	D	E
Picrocrocina(%)	22,8±1,9 <sup>a</sup>	22,5±1,8 <sup>a</sup>	22,3±0,2 <sup>a</sup>	20,8±0,3 <sup>a</sup>	20,7±1,6 <sup>a</sup>	21,6±0,5 <sup>a</sup>
Safranal(%)	9,0±0,8 <sup>a</sup>	9,3±1,1 <sup>a</sup>	9,8±0,2 <sup>a</sup>	9,4±0,0 <sup>a</sup>	8,6±1,3 <sup>a</sup>	9,6±0,3 <sup>a</sup>
Crocinas(%)	8,4±0,6 <sup>c</sup>	7,4±0,7 <sup>ab</sup>	8,1±0,3 <sup>ab</sup>	6,0±0,2 <sup>a</sup>	7,2±0,6 <sup>b</sup>	5,9±0,2 <sup>a</sup>

Tabla 3. Resultados de análisis colorimétrico ISO 3632.

Los resultados del análisis por cromatografía (Tabla 4) confirmaron lo ya visto al cuantificar con el método colorimétrico. Es decir, que los tratamientos más agresivos fueron C y E.

## BIBLIOGRAFÍA

-Gregory M.J., Menary R.C. and Davies N.W. (2005). Effect of Drying Temperature and Air Flow on the Production and Retention of Secondary Metabolites in Saffron. *J. Agric. Food Chem.* 53, 5969-5975. -Martín G. (2014). Azafrán I (*Crocus sativus* L.). Reduca (Biología). Serie Botánica. 7 (2): 71-83. -Pfander H. and Schurtenberger H. (1982). Biosynthesis of C20-Carotenoids in *Crocus sativus*. *Biochemistry* 21: 1039-1042. -Ordoudi S.A. and Tsimidou M.Z. (2004). Saffron quality: effect of agricultural practices, processing and storage. *R. Dris and S. M. Jain (eds.), Production Practices and Quality Assessment of Food Crops. Vol. 1, "Preharvest Practice", pp. 209-260.* - Zarghami, N. S. and Heinz D. E. (1971). The volatile constituents of saffron. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 4: 43-45. -Himeno H. and Sano K. (1987). Synthesis of crocin, picrocrocina and safranal by saffron stigma-like structures proliferated in vitro. *Agricultural and Biological Chemistry* 51: 2395-2400. -Normativa ISO 3632-2 (2011). - Winterhalter P. and Straubinger M. (2000) Saffron-Renewed Interest In An Ancient Spice. *Food Rev. Int.*, 16(1), 39-59. -Sjöberg A.M., Manninen S.J., Pinnioja S., Horkanen E. and Latva-Kala K. (1991). Irradiation of spices and its detection. *Food Reviews International* 7: 233-253. -Orfanou O. and Tsimidou M. (1996). Evaluation of the colouring strength of saffron spice by UVVis spectrometry. *Food Chemistry* 57: 463-469.

PHARMACTIVE  
BIOTECH PRODUCTS

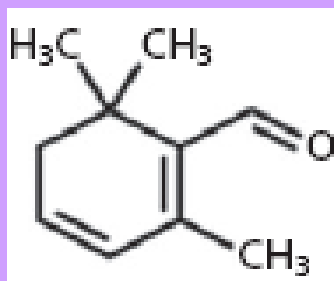


Fig 1. Safranal.

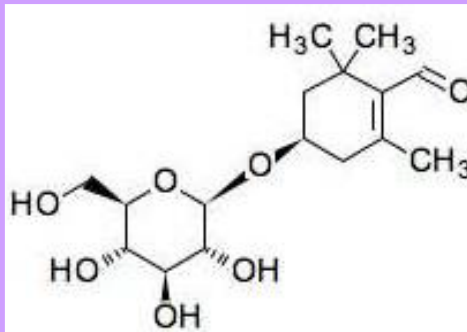


Fig 3. Picrocrocina.

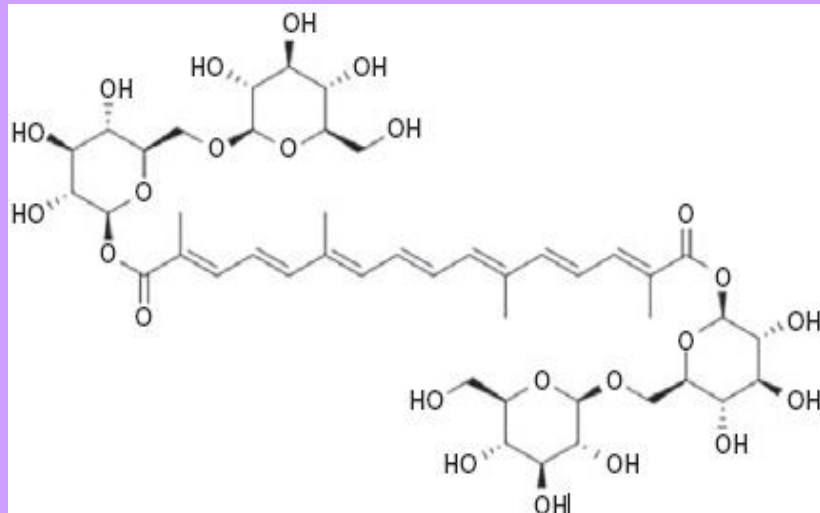


Fig 2. Crocina.

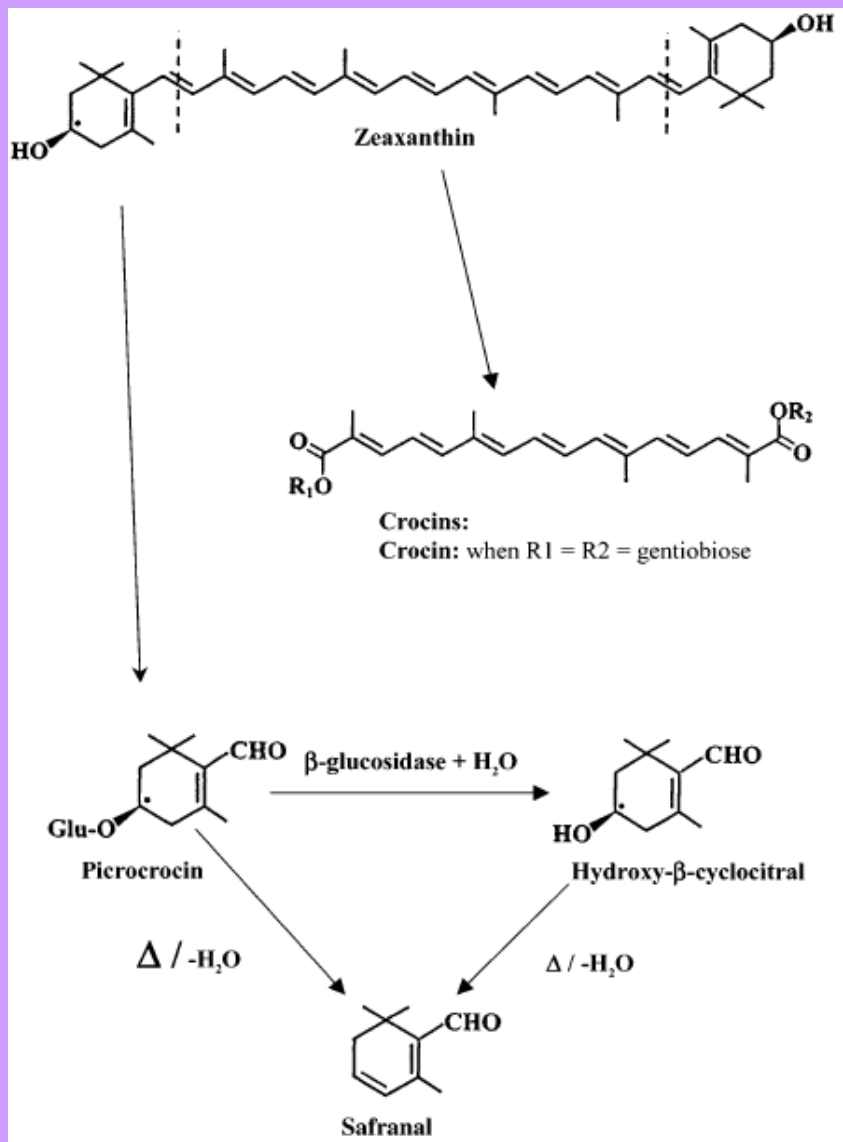


Fig 4. Formación de los principales metabolitos del azafrán.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El parámetro  $F_0$  junto a los perfiles de temperatura permiten conocer y evaluar la efectividad del proceso de esterilización, así como la letalidad que se obtiene. Como puede verse en la tabla 1 con los distintos tratamientos se alcanzan diferentes temperaturas y varían los valores de  $F_0$ , siendo este dato mayor para el tratamiento E.

Parámetros Autoclavado	Tratamientos				
	A	B	C	D	E
$F_0$	1,3±0,1	7,3±1,2	19,9±0,8	1,6±0,1	31,9±1,2
T. Mínima	20,8±0,4	25,0±0,7	23,5±0,7	24,3±1,8	24,5±0,7
T. Máxima	108,8±0,4	116,8±0,4	119,5±0,0	109,8±0,4	123,0±1,7

Tabla 1. Datos del termobotón tras tratamientos de esterilización.

Los resultados del control microbiológico recogidos en la Tabla 2 evidencian que no hay rastro de microorganismos en las muestras por lo que el proceso de esterilización ha sido efectivo para ambos lotes y en los cinco tratamientos.

P43 (ufc/g)	Control	Tratamientos				
		A	B	C	D	E
Aerobios totales	<10 <sup>4</sup>	0 Negativo			0 Negativo	
Mohos	<10 <sup>2</sup>					
Levaduras	<10 <sup>2</sup>					
Enterobacterias	<10 <sup>2</sup>					
<i>E coli</i>	Negativo					
P45 (ufc/g)	Control	Tratamientos				
		A	B	C	D	E
Aerobios totales	<10 <sup>4</sup>	0 Negativo			0 Negativo	
Mohos	<10 <sup>2</sup>					
Levaduras	<10 <sup>2</sup>					
Enterobacterias	<10 <sup>2</sup>					
<i>E coli</i>	Negativo					

Tabla 2. Resultados de análisis microbiológico.

P43	Control	Tratamientos				
		A	B	C	D	E
Picrocrocina	5,7±1,3 <sup>b</sup>	1,3±0,3 <sup>a</sup>	1,5±0,1 <sup>a</sup>	0,3±0,0 <sup>a</sup>	0,4±0,0 <sup>a</sup>	1,2±0,1 <sup>a</sup>
Safranal	0,4±0,1 <sup>a</sup>	0,6±0,2 <sup>b</sup>	1,0±0,0 <sup>d</sup>	0,9±0,0 <sup>cd</sup>	0,8±0,0 <sup>bc</sup>	0,9±0,0 <sup>bc</sup>
t-crocina-4	2,0±0,5 <sup>b</sup>	1,5±0,2 <sup>ab</sup>	1,5±0,2 <sup>ab</sup>	1,1±0,0 <sup>a</sup>	1,7±0,0 <sup>b</sup>	1,0±0,0 <sup>a</sup>
Crocinas	3,2±0,8 <sup>c</sup>	2,6±0,4 <sup>abc</sup>	2,8±0,4 <sup>abc</sup>	2,2±0,1 <sup>ab</sup>	3,0±0,1 <sup>bc</sup>	2,0±0,0 <sup>a</sup>
P45	Control	Tratamientos				
		A	B	C	D	E
Picrocrocina	1,4±0,2 <sup>b</sup>	1,5±0,1 <sup>b</sup>	1,6±0,0 <sup>b</sup>	0,3±0,0 <sup>a</sup>	0,4±0,0 <sup>a</sup>	1,4±0,3 <sup>b</sup>
Safranal	0,3±0,0 <sup>a</sup>	0,6±0,0 <sup>b</sup>	0,8±0,1 <sup>b</sup>	0,7±0,1 <sup>b</sup>	0,6±0,0 <sup>b</sup>	0,7±0,2 <sup>b</sup>
t-crocina-4	1,4±0,0 <sup>c</sup>	1,1±0,0 <sup>b</sup>	1,1±0,0 <sup>b</sup>	0,7±0,1 <sup>a</sup>	1,1±0,1 <sup>b</sup>	0,8±0,2 <sup>a</sup>
Crocinas	2,3±0,1 <sup>c</sup>	2,0±0,0 <sup>bc</sup>	2,2±0,0 <sup>bc</sup>	1,4±0,3 <sup>a</sup>	2,0±0,1 <sup>bc</sup>	1,7±0,5 <sup>ab</sup>

Tabla 4. Resultados tras HPLC.

## CONCLUSIONES

-Se ha conseguido eliminar por completo la microbiota del azafrán en todos los tratamientos aplicados aunque no con todos ellos conseguimos mantener los compuestos bioactivos.

-A la vista de los resultados, el tratamiento más eficaz es el tratamiento B ya que reúne las condiciones óptimas de autoclavado que permiten eliminar la microbiota presente en el azafrán sin afectar prácticamente a las crocinas y aumentando significativamente la concentración de safranal.